

## بررسی ویژگی‌های ضد اکسایشی اسانس دانه رازیانه (*Foeniculum vulgare*) و تأثیر آن بر پایداری اکسایشی

### روغن سویا

مونا مظاهری کلهرودی<sup>۱\*</sup>، علیرضا بصیری<sup>۲</sup>، حسین جلالی<sup>۳</sup>

۱. کارشناس ارشد، گروه مهندسی صنایع غذایی، دانشکده علوم و مهندسی صنایع غذایی،

دانشگاه آزاد اسلامی واحد دامغان

۲. استادیار، گروه صنایع غذایی و تبدیلی، پژوهشکده صنایع شیمیایی، سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران

۳. استادیار، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد دامغان

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۳/۳۱ - تاریخ تصویب: ۱۳۹۳/۹/۴)

### چکیده

در سال‌های اخیر استفاده از ضد اکساینده‌های سنتزی به علت سمی و سرطان‌زا بودن محدود شده است. بنابراین استفاده از منابع طبیعی به‌عنوان جایگزین ترکیب‌های سنتزی اهمیت ویژه‌ای دارد. در این پژوهش، تأثیر فعالیت ضد اکسایشی سطوح گوناگون اسانس دانه رازیانه شامل غلظت‌های ۰/۱، ۰/۲، ۰/۳، ۰/۴، ۰/۵، ۰/۶، ۰/۷، و ۰/۸ میلی‌گرم در میلی‌لیتر روغن سویای تصفیه‌شده عاری از ضد اکساینده، در دمای ۹۰ درجه سلسیوس، به مدت چهار هفته و در فواصل زمانی ثابت هفت‌روزه با آزمون گرم‌خانه‌گذاری (oven test) از طریق سنجش اندیس‌های آنیزیدین، پراکسید، و محاسبه اندیس توتوکس بررسی شد. هم‌چنین، زمان مقاومت به اکسایش نمونه‌ها با دستگاه رسیمت سنجیده شد. سپس نتایج حاصل از دو آزمون گرم‌خانه‌گذاری و رسیمت، با نمونه شاهد و ضد اکساینده‌های سنتزی بوتیلید هیدروکسی آنیزول (BHA) و بوتیلید هیدروکسی تولوئن (BHT) مقایسه شد. براساس نتایج حاصل از این پژوهش، با افزایش غلظت اسانس، اثر ضد اکسایشی بیشتر شد، ولی در محدوده غلظتی بررسی‌شده، رابطه خطی و مستقیم بین غلظت تیمارها و فعالیت ضد اکسایشی آن‌ها در روغن سویا دیده نشد. غلظت‌های ۰/۵ و ۰/۶ میلی‌گرم در میلی‌لیتر اسانس دانه رازیانه، دارای فعالیت ضد اکسایشی بالاتری در مقایسه با هر دو ضد اکساینده سنتزی BHA و BHT در روغن سویا بودند.

**کلیدواژگان:** اسانس، رازیانه، روغن سویا، ضد اکساینده.

### مقدمه

گیاهان دارویی، ارزش و جایگاه ویژه‌ای در تأمین بهداشت و سلامت جوامع دارند. ایران از غنی‌ترین منابع گیاهان دارویی جهان به‌شمار می‌رود که تنوع بالای شرایط زیست‌گاهی برای انواع گیاهان دارویی دارد. رازیانه، با نام علمی *Foeniculum vulgare* گیاهی دیپلوئید، چندساله، معطر، و متعلق به خانواده چتریان است. پراکندگی آن در جهان در نواحی مدیترانه و جنوب اروپا گزارش شده است (Weiping & Baokang, 2011). رازیانه در ایران از قدیم کاربرد خوراکی و دارویی داشته است و گونه‌های متنوع آن از نظر کیفیت و کمیت ترکیب‌های شیمیایی متفاوت هستند. این گیاه در ایران، در مناطق شمالی و غربی کشور کشت می‌شود (Omidbaigi, 1957). اسانس رازیانه به‌دلیل داشتن ویژگی‌های ضد میکروبی و ضد اکسایشی که ناشی از

حضور فلاونوئیدها، ترپنوئیدها، کاروتنوئیدها، و کومارین‌هاست، در انواع مواد غذایی و نوشیدنی‌ها به‌عنوان طعم‌دهنده استفاده می‌شود (Singh et al., 2006). بیش از سی نوع ترکیب ترپنی یا ترپنوئیدی در اسانس رازیانه وجود دارد. مهم‌ترین این نوع ترکیب‌ها عبارت‌اند از: "آنتول"، "فنچون"، "استراگول" (Guillen & Manzanos, 1996). آنالیز GC-Mass اسانس رازیانه، ۳۵ ترکیب را با مجموع ۹۶/۴ درصد نشان داد که ترانس-آنتول به‌میزان ۷۰/۱ درصد به‌عنوان ترکیب اصلی در اسانس رازیانه شناخته شد (Singh et al., 2006). Napoli et al. (2010) توانست ۷۸ ترکیب را با آنالیز GC-Mass در اسانس رازیانه شناسایی کند که در مجموع ۹۸ درصد را به‌خود اختصاص دادند. این ترکیب‌ها به‌طور عمده شامل مونوترپن‌ها و فنیل‌پروپانوئیدها بوده است که خاصیت احیاکنندگی دارند و میزان آن در بررسی‌های گوناگون از ۷۲/۸۶ درصد تا ۸۷/۸۵ درصد در بین بخش‌های گوناگون گیاه رازیانه می‌تواند متغیر باشد (Telci et al., 2009; Napoli et al., 2010).

\*نویسنده مسئول: mona.mazaheri59@gmail.com

Senatore et al. (2002) به بررسی ترکیب‌های شیمیایی، ویژگی‌های ضد میکروبی، و فعالیت ضد اکسایشی اسانس حاصل از گونه‌های گوناگون رازیانه پرداخت. نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که فعالیت ضد اکسایشی اسانس رازیانه بستگی به میزان ترانس - آنتول دارد. در تحقیقات بسیاری، مشخص شده است که میزان ترانس - آنتول در دانه رازیانه بیشترین مقدار است (Guillen & Manzanos, 1996). علاوه بر این، حضور ترکیب‌های فلاونوئیدی، گلیکوزید فلاونول‌ها، هیدروکربن‌های تریپنی اکسیژنه مانند فنچون و سایر ترکیب‌های فنولیک، که مسئول فعالیت رایندگی رادیکال‌های آزاد در اسانس دانه رازیانه هستند، می‌توانند فعالیت ضد اکسایشی خوبی را در روغن سویا ایجاد کنند (Singh et al., 2006; Pokomy et al., 2001). ترکیب‌های فنولیک قادرند تا یک اتم هیدروژن به رادیکال‌های آزاد بدهند و بدین ترتیب باعث توقف پیش‌روی واکنش‌های زنجیری در طی فرایند اکسایش چربی‌ها و روغن‌ها شوند (Yanishlieva & Marinova et al., 1998). تحقیقات انجام‌گرفته روی عصاره‌ها و اسانس‌های گیاهان معطر از جمله رازیانه نشان می‌دهد که فعالیت ضد اکسایشی هیدروکربن‌های تک‌حلقه‌ای مونوترپن با ۲ اتصال مضاعف در این گیاهان با فعالیت ضد اکسایشی فنول‌ها و آلفاتوکوفرول قابل مقایسه است (Misharina & Polshkov, 2005). فرایند اکسایش و تخریب اکسایشی که به ایجاد بدطعمی و کاهش کیفیت و افت ارزش تغذیه‌ای روغن‌ها و چربی‌ها می‌انجامد، از مهم‌ترین مشکلات صنعت روغن محسوب می‌شود. ضد اکساینده‌ها ترکیب‌هایی هستند که گسترش بدطعمی و فساد روغن‌ها و چربی‌ها را با توسعه زمان پایداری به تأخیر می‌اندازند (Yanishlieva -Maslarova, 2001).

روغن‌ها یکی از سامانه‌های غذایی هستند که مصرف بالایی در رژیم غذایی روزانه دارند. روغن سویا، از روغن‌های گیاهی شاخص است که اهمیت آن به دلیل فراوانی، ارزانی، و کیفیت خوب آن است. در ضمن به دلیل وجود مقدار نسبتاً زیاد اسیدهای چرب غیر اشباع در این روغن، پایداری آن در برابر اکسایش کم بوده و مستعد اکسایش است. ضد اکساینده‌های شیمیایی که بیشترین استفاده را در صنعت غذا دارند شامل ترشیو بوتیل هیدروکینون (TBHQ)، بوتیلید هیدروکسی آنیزول (BHA)، بوتیلید هیدروکسی تولوئن (BHT)، و پروپیل گالات هستند که سرطان‌زایی و تأثیر منفی این ترکیب‌ها بر سلامت انسان در تحقیقات متعدد نشان داده شده است (Kahl & Kappus, 1993; Namiki, 1990). ضد اکساینده‌ها از

عوامل اصلی خنثی‌کننده رادیکال‌های آزاد حاصل از اکسایش، که موادی فعال و مضر برای انسان‌اند و سبب بسیاری از بیماری‌های قلبی-عروقی و سرطان‌ها می‌شوند، هستند بنابراین تأمین ذخایر ضد اکسایشی، به منظور کاهش آثار تنش اکسایشی امری مهم تلقی می‌شود (Barros et al., 2009). تمام پیکر گیاه رازیانه حاوی اسانس است، اما مقدار اسانس و ترکیب آن در قسمت‌های گوناگون گیاه متفاوت است و در مراحل گوناگون رسیدن گیاه به‌طور شایانی تغییر می‌کند که می‌تواند متأثر از شرایطی چون نوع کشت، شرایط خاک، آب‌وهوا، زمان برداشت، زمان نگهداری، نوع اندام استفاده‌شده برای اسانس‌گیری، و سرانجام تفاوت ژنتیکی گیاه باشد (Reichert & Masandl, 2007). تحقیقات انجام‌گرفته نشان می‌دهند، اندام‌های هوایی رازیانه در مقایسه با سایر بخش‌های آن خاصیت ضد اکسایشی بالاتری دارند (Mata et al., 2007). Telci et al. (۲۰۰۹) در پژوهشی که روی اسانس دانه رازیانه انجام دادند به تعیین ترکیب اسانس در طول مراحل گوناگون بلوغ پرداختند. نتایج نشان دادند که کیفیت اسانس با بلوغ دانه، کاهش می‌یابد ولی در تمام مراحل بلوغ دانه رازیانه، ترکیب تشکیل‌دهنده اسانس بدون تغییر باقی می‌ماند. به‌طور کلی ترکیب اسانس بستگی به عوامل داخلی و خارجی مؤثر بر گیاه همچون ساختار ژنتیکی، مرحله بلوغ، شرایط زیست‌محیطی، و هم‌چنین شیوه کشاورزی مانند شرایط و زمان برداشت دارد. شایان توجه است، اگر موارد ذکرشده در شرایط نامطلوبی انجام پذیرد احتمال وقوع اکسایش در اسانس به‌میزان بالایی افزایش می‌یابد (Misharina & Polshkov, 2005). مقدار متوسط اسانس در برگ‌ها ۱ تا ۱/۵ درصد براساس ماده خشک و در ریشه ۰/۶ تا ۰/۷ درصد براساس ماده خشک است. در حالی که مقدار آن فقط در دانه رازیانه به ۲ تا ۶ درصد براساس ماده خشک گیاه می‌رسد. در دانه رازیانه ترکیب‌های دیگری مانند کربوهیدرات‌ها (۴/۰۷ تا ۶/۵۷ درصد)، پروتئین (۱۸ تا ۲۰ درصد)، و چربی (۱۲ تا ۱۸ درصد) نیز وجود دارند (Omidbaigi, 1957). Ayoghi et al. (2009) فعالیت ضد اکسایشی اسانس شوید را در روغن سویا بررسی کردند و سپس نتایج حاصل را با فعالیت ضد اکساینده‌های سنتزی BHT و BHA مقایسه کردند. آن‌ها بیان کردند که اسانس مذکور توانایی جلوگیری از تولید محصولات اولیه و ثانویه اکسایش در روغن سویا را دارند. Singh et al. (2006) فعالیت ضد اکسایشی اسانس رازیانه را در روغن کتان بررسی کردند. نتایج نشان داد که اسانس رازیانه فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالاتری در مقایسه با ضد اکساینده‌های سنتزی BHT و BHA

## مواد و روش‌ها

### مواد اولیه

دانه‌های رازیانه از سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران، روغن سویای تصفیه‌شده عاری از ضد اکساینده، از کارخانه روغن محسن و مواد شیمیایی استفاده‌شده با خلوص آزمایشگاهی از شرکت مرک آلمان تهیه شدند.

### آماده‌سازی نمونه دانه رازیانه:

به منظور استخراج اسانس دانه رازیانه به روش کلونجر، ابتدا دانه‌های رازیانه، پاک‌سازی شدند و سپس نمونه‌ها در خشک‌کن با جریان جابه‌جایی هوا و در دمای ۴۰ درجه سلسیوس تا دستیابی به رطوبت نهایی متوسط ۷/۶ درصد بر پایه مرطوب خشک شدند (Lucinewton *et al.*, 2005).

### اسانس‌گیری

اسانس‌گیری از دانه‌های رازیانه، به روش تقطیر با آب با دستگاه کلونجر انجام شد. ۱۰۰ گرم پودر دانه رازیانه در مخزن استخراج‌کننده کلونجر قرار داده شد. استخراج اسانس با ۱۰۰۰ میلی‌لیتر آب به مدت ۳ ساعت انجام شد. راندمان اسانس به دست آمده پس از آب‌گیری تعیین شد. اسانس حاصل، به دور از نور و در دمای یخچال، تا شروع آزمایش‌ها نگهداری شد (Anonymous, 1999).

### ارزیابی فعالیت ضد اکسایشی اسانس دانه رازیانه

اسانس دانه رازیانه مطابق با جدول ۱ در نه سطح، با غلظت‌های ۰، ۰/۱، ۰/۲، ۰/۳، ۰/۴، ۰/۵، ۰/۶، ۰/۷، ۰/۸ میلی‌گرم در میلی‌لیتر و همچنین ضد اکساینده‌های سنتزی BHA به میزان غلظت مجاز ۰/۱۷۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر و BHT به میزان ۰/۰۷۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر و مخلوط هر دو نوع ضد اکساینده سنتزی (BHA+BHT) به میزان ۰/۱۷۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر به روغن سویای تصفیه‌شده عاری از ضد اکساینده، افزوده شد و کاملاً مخلوط شدند (ISIRI, 2013). اثر تیمارهای به کاررفته بر شدت اکسایش روغن سویا، در طول دوره نگهداری در دمای ۹۰ درجه سلسیوس با آزمون گرم‌خانه‌گذاری (آون Memmert، مدل ۵۰۰-ULM، ساخت کشور آلمان)، به مدت ۴ هفته و در فواصل زمانی ثابت هفت‌روزه از طریق سنجش اندیس‌های پراکسید، آیزیدین، و توتوکس بررسی گردید (2002, *et al.* Bandoniène). در ادامه مدت مقاومت به اکسایش نمونه‌ها با دستگاه رنسیمت (شرکت Metrohm، مدل ۷۴۳) در دمای ۱۱۰ درجه سلسیوس سنجیده شد (Mohagheghi Samarin *et al.*, 2011). هم‌چنین، درصد فعالیت ضد اکسایشی تمام تیمارها پس

دارد. Mata *et al.* (2007) در پژوهشی نشان دادند که اسانس رازیانه دارای فعالیت ضد اکسایشی بالاتری در مقایسه با BHT است. Misharina & Polshkov (2005) به بررسی اکسایش خودبه‌خودی اسانس رازیانه در دو حالت تاریکی و روشنایی در طی دوره انبارداری پرداختند. نتایج نشان داد که سرعت اکسایش اسانس رازیانه در تاریکی به دلیل حفظ ترکیب اصلی آن که "ترانس-آنتول" نام دارد، به میزان بالایی کاهش یافت. بررسی‌ها نشان دادند که بیشترین فعالیت ضد اکسایشی مربوط به ترکیب‌های اکسیژن‌دار، سپس ترکیب‌های فنولیک شامل ویتامین‌ها، رنگدانه‌ها و فلاونوئیدها، اسانس، و هیدروکربن‌ها است که ویژگی‌های ضد جهشی، ضد سرطانی، و هم‌چنین کاهش قند خون را نیز دارد (Kulisic *et al.*, 2004). Roby *et al.* (2002) به بررسی فعالیت ضد اکسایشی و ویژگی‌های ضد میکروبی اسانس و عصاره رازیانه و بابونه پرداختند. نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که اسانس و عصاره‌های هر دو گیاه، فعالیت ضد اکسایشی بالایی دارند. علاوه بر این، اسانس هر دو گیاه توانست فعالیت ضد باکتریایی خوبی نیز از خود نشان دهد. Alinezhad *et al.* (2011) نشان دادند که اسانس رازیانه در جلوگیری از تولید آفلاتوکسین توسط اسپرژیلوس پارازیتیکوس مؤثر است. Baaliouamer & Zoubiri (2011) در بررسی خواص حشره‌کشی اسانس‌های رازیانه و رزماری روی محصولات کشاورزی، به این نتیجه رسیدند که اسانس حاصل از گیاهان، کاربرد بالقوه‌ای برای کنترل سودمند آفات دارد و می‌تواند به عنوان عامل محافظ محصولات زراعی به کار رود. Barazandeh *et al.* (2002) به بررسی تأثیر روش‌های گوناگون اسانس‌گیری بر میزان و ترکیب شیمیایی اسانس رازیانه پرداخت. نتایج نشان داد، روش اسانس‌گیری فقط بر کمیت اسانس اثر داشت و بر کیفیت آن مؤثر نیست. در میان هیجده ترکیب شناسایی‌شده در این پژوهش، ای-آنتول (۷۷/۵-۶۲/۱ درصد)، فنچون (۱۴/۴-۸/۸ درصد)، و استراگول (۵/۵-۲/۵ درصد) بیشترین غلظت را به خود اختصاص دادند. Viuda-Martos *et al.* (2011) فعالیت ضد باکتریایی اسانس رازیانه را بررسی کردند. نتایج نشان داد اسانس رازیانه به دلیل محتوای بالای ترکیب‌های فنولیک، اثر مهارکنندگی خوبی روی رشد باکتری‌های پاتوژن و باکتری‌های مولد فساد دارد. هدف از این پژوهش، بررسی ویژگی‌های ضد اکسایشی اسانس دانه رازیانه (*Foeniculum vulgare*) و تأثیر آن بر پایداری اکسایشی روغن سویا است.

از طی دوره نگهداری، به عنوان شاخص ممانعت از اکسایش روغن سویا سنجیده شد (Abdalla & Roozen, 1999). روش‌های به کاررفته در ارزیابی پایداری اکسایشی روغن سویا به گونه‌ای انتخاب شدند که بتوان تخمین صحیحی از پیش‌روی تخریب اکسایشی روغن سویا ارائه داد. در روش رنسیمت محصولات ثانویه حاصل از اکسایش روغن‌ها و چربی‌ها شامل آلدئیدها، کتون‌ها، و اسیدها سنجیده می‌شوند. درحالی‌که اندیس پراکسید، معیاری است که برای اندازه‌گیری هیدروپراکسیدها به کار می‌رود. هیدروپراکسیدها محصولات اولیه اکسایش شناخته شده‌اند که ممکن است به فراورده‌های ثانویه فرآر و غیر فرآر تجزیه شوند. این در حالی است که اندیس آنیزیدین برای سنجش محصولات ثانویه اکسایش به کار می‌رود.

اندیس توتوکس نیز معیاری از اکسایش کل است که شامل فراورده‌های اولیه و ثانویه اکسایش است (Shahidi & Zhong, 2005). مدت مقاومت به اکسایش نمونه‌ها با دستگاه رنسیمت، مطابق با روش ارائه شده Proestos et al. (2006) انجام گرفت. اندیس پراکسید طبق روش AOCs (1998) با شماره استاندارد cd 8-53 صورت گرفت. اندیس آنیزیدین مطابق با روش IUPAC (1992)،  $2/504$  اندازه‌گیری شد. اندیس توتوکس نیز مطابق با رابطه ارائه شده Wanasundara & Shahidi (2002) محاسبه گردید. به منظور تعیین درصد فعالیت ضد اکسایشی نیز از رابطه ۱ استفاده شد (Abdalla & Roozen, 1999).

(رابطه ۱)

$[\text{اندیس پراکسید شاهد} / \text{اندیس پراکسید نمونه}] - 100 = \text{درصد فعالیت ضد اکسایشی}$

جدول ۱. کد تیمارهای تحت بررسی

کد	نمونه
I <sub>0</sub>	روغن تصفیه شده بدون هرگونه افزودنی (شاهد)
I <sub>1</sub>	روغن تصفیه شده حاوی ۰/۱ میلی گرم در میلی لیتر اسانس دانه رازیانه
I <sub>2</sub>	روغن تصفیه شده حاوی ۰/۲ میلی گرم در میلی لیتر اسانس دانه رازیانه
I <sub>3</sub>	روغن تصفیه شده حاوی ۰/۳ میلی گرم در میلی لیتر اسانس دانه رازیانه
I <sub>4</sub>	روغن تصفیه شده حاوی ۰/۴ میلی گرم در میلی لیتر اسانس دانه رازیانه
I <sub>5</sub>	روغن تصفیه شده حاوی ۰/۵ میلی گرم در میلی لیتر اسانس دانه رازیانه
I <sub>6</sub>	روغن تصفیه شده حاوی ۰/۶ میلی گرم در میلی لیتر اسانس دانه رازیانه
I <sub>7</sub>	روغن تصفیه شده حاوی ۰/۷ میلی گرم در میلی لیتر اسانس دانه رازیانه
I <sub>8</sub>	روغن تصفیه شده حاوی ۰/۸ میلی گرم در میلی لیتر اسانس دانه رازیانه

### تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

این تحقیق در قالب طرح کاملاً تصادفی و در ۴ تکرار انجام شد. تحلیل نتایج به دست آمده، با استفاده از آنالیز واریانس (ANOVA) و آزمون مقایسه میانگین چنددانه‌ای دانکن با به کارگیری بسته نرم‌افزاری SAS در سطح اطمینان ۹۹ درصد انجام شد. رسم نمودارها با نرم‌افزار EXCEL انجام شد.

### نتایج و بحث

#### راندمان اسانس گیری

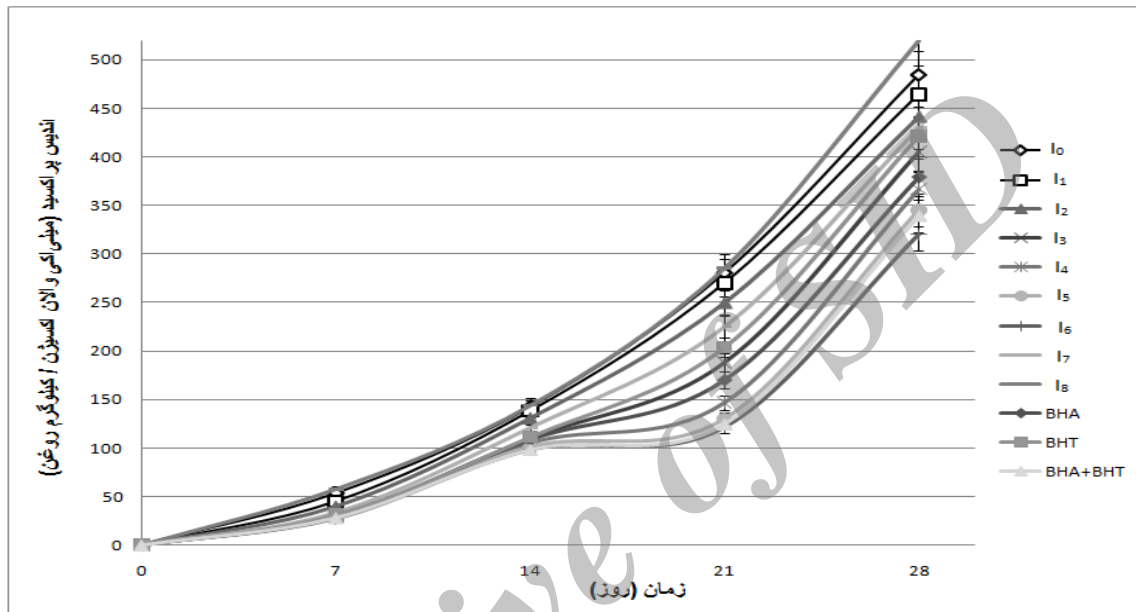
در این پژوهش، میانگین راندمان اسانس به دست آمده با دستگاه کلونجر در چهار تکرار، ۳/۱ درصد بر مبنای وزن خشک گیاه تعیین گردید که اختلاف در میزان راندمان اسانس گیری در پژوهش‌های گوناگون، ناشی از تفاوت در شرایط کشت، منطقه جغرافیایی، و زمان برداشت نمونه رازیانه و شرایط اسانس گیری شامل اندازه ذرات پودر رازیانه و نسبت میزان پودر به حلال است.

#### روند تغییرات اندیس پراکسید در طی دوره نگهداری

نتایج نشان دادند میانگین شاخص پراکسید در نمونه شاهد با تمام تیمارهای تحت بررسی، اختلاف آماری معنی داری در سطح  $P < 0/01$  دارد. با توجه به شکل ۱ با گذشت زمان طی ۲۸ روز نگهداری در شرایط اکسایش تسریع شده، اندیس پراکسید در همه تیمارها افزایش یافت. پایین ترین میزان میانگین اندیس پراکسید در روغن سویا حاوی غلظت ۰/۶ میلی گرم در میلی لیتر اسانس و پس از آن ۰/۵ میلی گرم در میلی لیتر به دست آمد که فعالیت ضد اکسایشی اسانس در سطح غلظتی ۰/۵ میلی گرم در میلی لیتر تفاوت آماری معنی داری با مخلوط هر دو نوع ضد اکساینده سنتزی (BHA+BHT) در غلظت به کاررفته نداشت. در توضیح مکانیسم عملکرد ترکیب‌های ضد اکسایشی اسانس دانه رازیانه، این احتمال وجود دارد که ضد اکساینده‌های دانه رازیانه، علاوه بر مکانیسم رادیکالی، از طریق مکانیسمی غیر رادیکالی نیز، هیدروپراکسیدهای روغن سویا را به مواد غیر رادیکالی تخریب کنند و بنابراین میزان هیدروپراکسیدها و در پی آن،

شدت اکسایش در غلظت‌های بالای اسانس دارد. Kammal- Appelqvist & Eldin (1996) علت این پدیده را به تأثیرات پرواکسیدانی اسانس در غلظت‌های بالا مربوط دانستند زیرا با افزایش غلظت اسانس، به موازات افزایش ترکیب‌های فنولیک، ناخالصی‌های موجود در اسانس نیز افزایش می‌یابد و به افزایش تأثیرات پرواکسیدانی و در پی آن کاهش فعالیت ضد اکسایشی می‌شود.

شاخص پراکسید را کاهش دهند. ضمن اینکه، میزان رادیکال‌های آزاد نیز در این حالت کاهش می‌یابند. بنابراین می‌توان این‌گونه استنباط کرد که، اسانس دانه‌ی رازیانه از آن دسته ترکیب‌های ضد اکسایشی است که نحوه‌ی عملکرد ضد اکسایشی آن‌ها، از طریق تجزیه‌ی ترکیب‌های هیدروپراکسید به مواد غیر رادیکالی است (Pokorny *et al.*, 2001). نتایج حاصل از اندازه‌گیری شاخص پراکسید در این پژوهش حاکی از افزایش



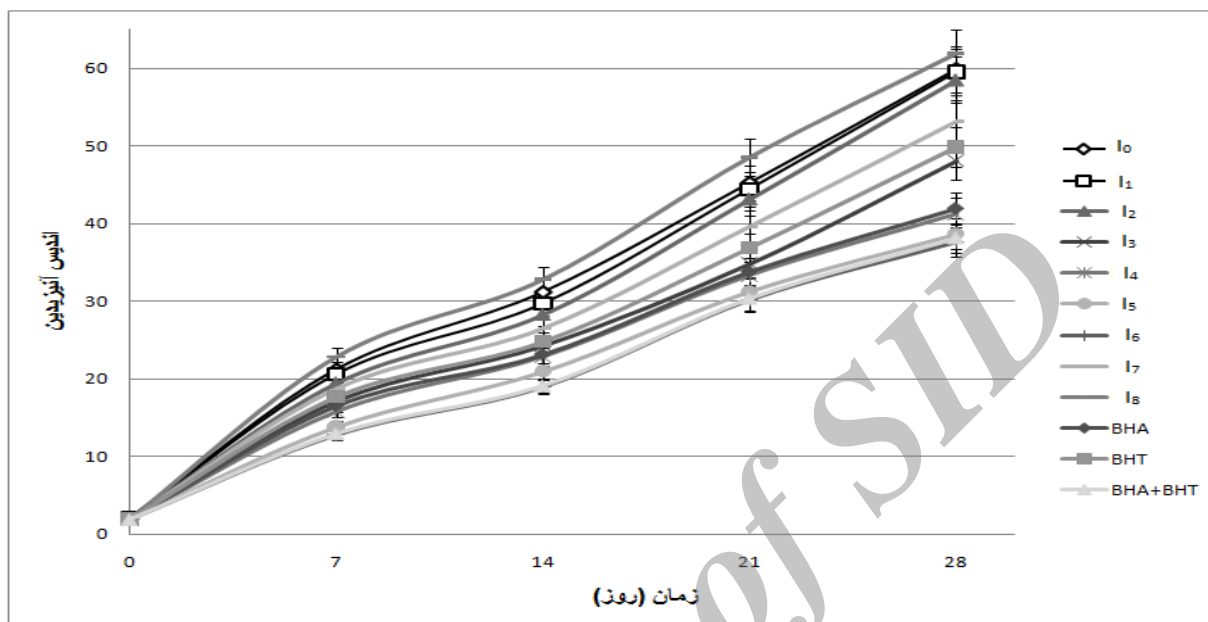
شکل ۱. تغییرات اندیس پراکسید در طول دوره‌ی نگهداری در نمونه‌های روغن سویا حاوی اسانس دانه‌ی رازیانه‌ی بررسی‌شده (meq O<sub>2</sub>/kg oil)

اسانس به موازات افزایش ترکیب‌های فنولیک و ایجاد خطا در سنجش میزان جذب نسبت می‌دهند. علت دیگری که برای این موضوع ذکر می‌شود شرکت ترکیب‌های فنولیک و فلاونوئیدهای موجود در اسانس در واکنش‌های قهوه‌ای شدن آنزیمی است که به ازدست‌رفتن خاصیت ضد اکسایشی در آن‌ها می‌انجامد (1999 Fatemi). در فرضیه‌ای که Armando *et al.* (1998) بیان کردند، علت این پدیده را مربوط به اثر بلوکه‌کننده آلفاتوکوفرول موجود در روغن سویای تصفیه‌شده روی ترکیب‌های دارای گروه‌های هیدروکسیل در اسانس دانه‌ی رازیانه دانستند که منجر به به‌دام‌انداختن ضد اکساینده‌ها و به‌دنبال آن افزایش شدت اکسایش، به‌ویژه در غلظت‌های بالای اسانس و دماهای بالای نگهداری به‌طور هم‌زمان می‌شود. افزایش اندیس آنیزیدین، بیان‌گر گسترش واکنش اکسایش خودبه‌خودی و افزایش محصولات ثانویه حاصل از تجزیه‌ی هیدروپراکسیدها و ترکیب‌های کربونیل‌دار با گذشت زمان است. این احتمال وجود دارد که ذرات معلق و تاحدودی تغییر رنگ روغن حاوی غلظت‌های بالای

روند تغییرات اندیس آنیزیدین در طول دوره‌ی نگهداری با توجه به شکل ۲ با گذشت زمان طی ۲۸ روز نگهداری در شرایط اکسایش تسریع‌شده، اندیس آنیزیدین در همه‌ی تیمارها افزایش یافت و میانگین شاخص آنیزیدین در نمونه‌ی شاهد با تمام تیمارهای تحت بررسی، اختلاف آماری معنی‌داری در سطح  $P < 0.01$  داشت. پایین‌ترین میزان میانگین اندیس آنیزیدین در روغن سویا حاوی غلظت ۰/۵ و ۰/۶ میلی‌گرم در میلی‌لیتر اسانس به‌دست آمد. لازم به ذکر است که این دو تیمار، اختلاف آماری معنی‌داری در سطح بررسی‌شده با یکدیگر نداشتند و قابل‌قیاس با تیمار مخلوط ضد اکساینده‌های سنتزی (BHA+BHT) نبودند و کارایی بالاتری در مقایسه با BHT و BHA از خود نشان دادند. همچنین، بالاترین میزان اندیس آنیزیدین نیز در نمونه‌ی شاهد مشاهده شد. Vassiliki (2005) اعلام کردند که افزودن بیش از حد ترکیب‌های فنولیک به روغن سویا، اثر ضد اکسایشی را کاهش می‌دهد. علت این موضوع را به افزایش میزان ناخالصی‌ها در

ترکیب‌ها، از طریق واکنش با معرف پی‌آنیزیدین باعث افزایش غیر عادی شدت جذب در طول موج ۳۵۰ نانومتر می‌شوند (Pokorny *et al.*, 2001).

اسانس مذکور، بتواند در سنجش میزان شدت جذب در طول موج ۳۵۰ نانومتر مداخله و ایجاد خطا کند. یکی دیگر از دلایل احتمالی نتایج حاصل، می‌تواند انجام واکنش میلارد باشد. واکنش میلارد، ترکیب‌های کربونیل‌دار تولید می‌کند که این



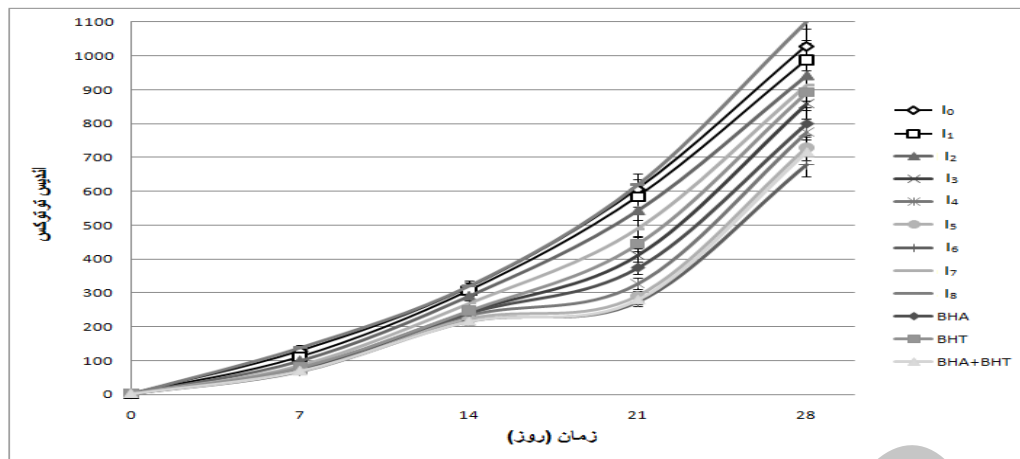
شکل ۲. تغییرات اندیس آنیزیدین در طول دوره نگهداری در نمونه‌های روغن سویا حاوی اسانس دانه رازیانه بررسی شده

کردند که اسانس مذکور در غلظت ۰/۶ میلی گرم در میلی لیتر، توانایی جلوگیری از تولید محصولات اولیه و ثانویه اکسایش در روغن سویا را دارد. لازم به ذکر است که اسانس شوید در غلظت ذکر شده، فعالیت آنتی‌اکسیدانی معادل با آنتی‌اکسیدان سنتزی BHA دارد. به نظر می‌رسد اختلاف در قدرت ضد اکسایشی ترکیب‌های فنولیک گیاهان گوناگون، به اختلاف در ساختمان شیمیایی آن‌ها برمی‌گردد (Waterman & Mole, 1994).

**زمان پایداری در مقایسه با اکسایش در طول دوره نگهداری**  
مطابق با جدول ۲ با افزایش طول دوره نگهداری در شرایط اکسایش تسریع شده، در همه تیمارهای بررسی شده، پایداری اکسایشی روغن سویا کاهش یافت، به طوری که در هفته اول و در تیمار حاوی ۰/۶ میلی گرم در میلی لیتر اسانس دانه رازیانه، بالاترین میزان زمان پایداری حرارتی در روغن سویا مشاهده شد. همچنین، تیمار ذکر شده، اختلاف آماری معنی داری در سطح بررسی شده با تیمار مخلوط ضد اکساینده‌های سنتزی (BHA+BHT) نداشت و کارایی به مراتب بالاتری در افزایش زمان مقاومت به اکسایش، در مقایسه با دو تیمار سنتزی BHT و BHA از خود نشان داد ( $P < 0.01$ ).

#### روند تغییرات اندیس توتوکس در طول دوره نگهداری

با توجه به شکل ۳ با گذشت زمان طی ۲۸ روز نگهداری در شرایط اکسایش تسریع شده، اندیس توتوکس در همه تیمارها افزایش یافته است و میانگین شاخص توتوکس در نمونه شاهد با تمام تیمارهای بررسی شده، اختلاف آماری معنی داری در سطح  $P < 0.01$  دارد. پایین‌ترین میزان میانگین اندیس توتوکس در روغن سویا حاوی غلظت ۰/۶ میلی گرم در میلی لیتر اسانس و پس از آن در تیمار حاوی ۰/۵ میلی گرم در میلی لیتر به دست آمد. لازم به ذکر است که تیمار حاوی ۰/۵ میلی گرم در میلی لیتر اسانس، اختلاف آماری معنی داری در سطح بررسی شده با تیمار مخلوط ضد اکساینده‌های سنتزی (BHA+BHT) نداشت، و کارایی بالاتری نیز در مقایسه با دو تیمار سنتزی BHT و BHA از خود نشان داد. بالاترین میزان تولید محصولات اولیه و ثانویه نیز در نمونه شاهد مشاهده شد. نتایج حاصل از اندازه‌گیری محصولات اولیه و ثانویه در این پژوهش، با نتایج گزارش شده (Ayoghi *et al.*, 2009) مطابقت دارد. این محققان فعالیت ضد اکسایشی اسانس شوید را در روغن سویا بررسی کردند و سپس نتایج حاصل را با فعالیت ضد اکساینده‌های سنتزی BHT و BHA مقایسه کردند. آن‌ها بیان



شکل ۳. تغییرات اندیس توتوکس در طول دوره نگهداری در نمونه‌های روغن سویا حاوی اسانس دانه رازیانه بررسی شده

جدول ۲. زمان پایداری در برابر اکسایش تیمارهای گوناگون روغن سویا براساس آزمون رنسیمت در طول دوره نگهداری (ساعت)

نوع تیمار	روز ۷	روز ۱۴	روز ۲۱	روز ۲۸
I <sub>0</sub>	۸/۰۴±۱/۰۰ h	۷/۳۲±۰/۸۰ h	۶/۸۹±۰/۱۵ h	۶/۰۵±۰/۰۸ h
I <sub>1</sub>	۸/۲±۰/۱۲ gh	۷/۸۳±۰/۸۷ gh	۷/۰۷±۰/۱۳ gh	۶/۱۶±۰/۱ gh
I <sub>2</sub>	۸/۵۵±۰/۰۹ fg	۸/۰۱±۱/۸۹ fg	۷/۱۳±۰/۰۱ fg	۶/۴۲±۰/۰۹ fg
I <sub>3</sub>	۹/۷۶±۰/۲۰ e	۸/۵۲±۱/۱۴ e	۷/۸۵±۰/۴۱ e	۶/۸۴±۰/۰۵ e
I <sub>4</sub>	۱۰/۴۱±۰/۰۹ c	۹/۴۳±۰/۸۸ c	۸/۹±۰/۲۴ c	۷/۵۷±۰/۲۴ c
I <sub>5</sub>	۱۰/۷۶±۰/۱۶ b	۹/۹۸±۱/۰۵ b	۹/۲۵±۰/۲۸ b	۷/۹۷±۰/۱۸ b
I <sub>6</sub>	۱۱/۷۶±۰/۱۴ a	۱۰/۶۶±۱/۹۲ a	۹/۶±۰/۱۵ a	۸/۵۸±۰/۲۸ a
I <sub>7</sub>	۹/۲۵±۰/۱۲ ef	۸/۱۷±۰/۸۱ ef	۷/۲۴±۰/۴۷ ef	۶/۵۸±۰/۱۳ ef
I <sub>8</sub>	۷/۶۵±۰/۸۸ h	۷/۲۱±۰/۹۶ h	۶/۶۳±۰/۹۸ h	۵/۸۶±۰/۱۳ h
BHA	۱۰/۱۱±۰/۲۰ d	۸/۹۳±۰/۲۱ d	۸/۲۴±۰/۱۸ d	۷/۲۴±۰/۲۱ d
BHT	۹/۵۹±۰/۱۸ ef	۸/۳۱±۰/۰۷ ef	۷/۴۵±۰/۱۱ ef	۶/۶۵±۰/۱۶ ef
BHA+BHT	۱۱/۳۳±۰/۱۶ a	۱۰/۳±۰/۱ a	۹/۵۳±۰/۱۵ a	۸/۳۱±۰/۰۹ a

\*حروف غیر یکسان در هر ستون نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح ۱ درصد است ( $P < 0.01$ ).

### تعیین درصد فعالیت ضد اکسایشی اسانس در طول دوره نگهداری

با توجه به جدول ۳ بالاترین میزان میانگین فعالیت ضد اکسایشی در تیمار ۰/۶ میلی‌گرم در میلی‌لیتر اسانس (۳۳/۹۶ درصد) مشاهده شد. همچنین، اختلاف آماری معنی‌داری در سطح آزمون‌شده، بین دو تیمار ۰/۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر اسانس دانه رازیانه و تیمار سنتزی (BHA+BHT) مشاهده نشد. پایین‌ترین درصد فعالیت ضد اکسایشی نیز در تیمار حاوی ۰/۸ میلی‌گرم در میلی‌لیتر اسانس مشاهده شد که این تیمار هیچ اثر ضد اکسایشی روی روغن سویا نداشت، و اثر پرواکسیدانی معنی‌داری در سطح آزمون‌شده از خود نشان داد ( $P < 0.01$ ). با توجه به جدول‌های ۲ و ۳ با افزایش طول دوره نگهداری، در همه تیمارهای بررسی‌شده به‌علت تخریب و یا مصرف ترکیب‌های طبیعی دارای فعالیت ضد اکسایشی، پایداری

### جدول ۳. فعالیت ضد اکسایشی اسانس دانه رازیانه، BHA، BHT و BHA+BHT در روغن سویا پس از ۲۸ روز نگهداری در دمای ۹۰° c

نوع تیمار	فعالیت ضد اکسایشی (درصد)
I <sub>0</sub>	۰ h
I <sub>1</sub>	۴/۲۱ ± ۱/۶۱ g
I <sub>2</sub>	۸/۸۸ ± ۰/۲۷ f
I <sub>3</sub>	۱۶/۴۴ ± ۲/۰۶ d
I <sub>4</sub>	۲۴/۳۱۶ ± ۱/۶۲ c
I <sub>5</sub>	۲۸/۷۷ ± ۲/۱۳ b
I <sub>6</sub>	۳۳/۹۶ ± ۱/۶۳ a
I <sub>7</sub>	۱۱/۳۴ ± ۰/۴۸ ef
I <sub>8</sub>	-۷/۳ ± ۲/۵۴ i
BHA	۲۱/۷۸ ± ۰/۶۳ c
BHT	۱۳/۱ ± ۰/۸ e
BHA+BHT	۳۰/۰۳ ± ۱/۷۶ b

\*حروف غیر یکسان در هر ستون نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح ۱

درصد است ( $P < 0.01$ )

اکساینده‌ای در دو نوبت بر روند اکسایش اثر می‌گذارد. امروزه علت کارایی بالای ترکیب‌های ضد اکسایشی را به وجود رزونانس در رادیکال‌های آزاد تشکیل‌شده از آن‌ها مربوط می‌دانند (1999 Fatemi, Kamaliroosta *et al.* (2011). بیان کردند که روش استخراج و عدم حضور ناخالصی‌ها در عصاره، روش مورد آزمون برای سنجش فعالیت ضد اکسایشی، غلظت عصاره مصرفی، و دما و نوع بستر چربی روی میزان فعالیت ضد اکسایشی عصاره مورد نظر بسیار مؤثر است.

#### نتیجه‌گیری

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که ضد اکساینده‌های طبیعی موجود در اسانس دانه رازیانه به‌طور مؤثری قادر به کنترل روند اکسایش در روغن سویا هستند، به‌طوری که غلظت‌های ۰/۵ و ۰/۶ میلی‌گرم در میلی‌لیتر اسانس دانه رازیانه فعالیت ضد اکسایشی بالاتری در مقایسه با هر دو ضد اکساینده سنتزی BHT و BHA در روغن سویا داشتند. بنابراین، می‌توان اسانس دانه رازیانه را پس از آزمایش‌های تکمیلی، در غلظت‌های مناسب، به‌عنوان جایگزین طبیعی ترکیب‌های سنتزی BHT و BHA در مواد غذایی به‌کار برد.

#### REFERENCES

- Abdalla AE, Roozen JP. (1999). Effect of plant extracts on the oxidative stability of sunflower oil and emulsion. *Journal of Food Chemistry*, 64(3), 323-329.
- Alinezhad S, Kamalzadeh A, Shams-Ghahfarokhi M, Rezaee MB, Jaimand K, Kawachi M, Zamani Z, Tolouei R, Razzaghi-Abyaneh M. (2011). Search for novel antifungals from 49 indigenous medicinal plants: *Foeniculum vulgare* and *Platycladus Orientalis* as strong inhibitors of aflatoxin production by *Aspergillus parasiticus*. *Journal of Annals Microbiology*, 61, 673-681.
- Anonymous. (1999). British Pharmacopoeia Appendix XI D. in British Pharmacopoeia Department of Health. 3rd ed. London: UK. p. 190-192.
- AOCS. (1998). Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemist's Society, 5th ed. pp. 8-53. AOCS Press.
- Armando C, Maythe S, Beatriz NP. (1998). Antioxidant activity of grapefruit seed extract on vegetable oils. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 77(4), 463-467.
- Ayoghi F, Barzegar M, Sahari MA, Naghdi Baadi HA. (2009). Evaluation of antioxidant activity of *Anethum graveolens* essence in soybean oil in comparison with chemical antioxidant. *Journal of Medicinal Plants*, 8(2), 71-83 (In Farsi).
- Bandoniene D, Venskutonis PR, Gruzdienė D, Murkovic M. (2002). Antioxidant activity of Sage (*Salvia officinalis L.*), Savory (*Satureja hortensis L.*) and Borage (*Borago officinalis L.*) extracts in rapeseed oil. *European Journal of Lipid Science Technology*, 104, 286-292.
- Barazandeh M, Rezaei M, Jaymand K, Maddah M. (2002). Effect of essence making on quantity and chemical composition of *Foeniculum vulgare* Mill. ssp. Capillaceum essence. *Journal of Research and Development*, 15, 90-95 [In Farsi].
- Barros L, Heleno SA, Carvalho AM, Ferreira ICFR. (2009). Systematic evaluation of the antioxidant potential of different parts of *Foeniculum vulgare* Mill. from Portugal. *Journal of Food and Chemical Toxicology*, 47, 2458-2464.
- Fatemi H. (1999). *Food Chemistry*. Enteshar Corporation Eds. p. 480 (In Farsi).
- Guillen MD, Manzanos MJ. (1996). A study of several parts of the plant *Foeniculum vulgare* as a source of compounds with industrial interest. *Journal of Food Research International*, 29(1), 85-88.
- Institute of Standards and Industrial Research of Iran. (2013). Permitted food additives-Antioxidants. ISIRI no 3608. 1st ed. Karaj: (In Farsi).
- IUPAC. (1992). *International Union of Pure and Applied Chemistry*, Standard Methods for the Analysis of Oils, Fats and Derivatives. Blackwell Scientific Publishers, 7th Ed.
- Kahl R, Kappus H. (1993). Toxicity of synthetic antioxidants BHT and BHA in comparison with natural antioxidants vitamin E. *Zeitschrift fur*



- Lebensmittel-Untersuchung und Forschung*, 196, 329-338.
- Kamaliroosta L, Ghavami M, Gharachorloo M, Azizinezhad R. (2011). Isolation of cinnamon extract and assessing its effect on the stability of sunflower oil. *Iranian Journal of Nutrition Science and Food Technology*, 1, 13-22 [In Farsi].
- Kammal-Eldin A, Appelqvist L. (1996). The chemistry and antioxidant properties of tocopherols and tocotrienols. *Journal of Lipids*, 31, 671-701.
- Kulicic T, Radonic A and Katalinic V. (2004). Use of different methods for testing antioxidative of oregano essential oil. *Journal of Food Chemistry*, 85, 633-640.
- Lucinewton SM, Raul NCJR, Mirian BS, Lin CM, Angela AM. (2005). Supercritical fluid extraction from fennel (*Foeniculum vulgare*): global yield, composition and kinetic data. *Journal of Supercritical Fluids*, 35, 212-219.
- Mata AT, Proenc C, Ferreira AR, Serralheiro MLM, Nogueira JMF, Araujo MEM. (2007). Antioxidant and antiacetylcholinesterase activities of five plants used as Portuguese food spices. *Journal of Food Chemistry*, 103, 778-786.
- Misharina TA, Polshkov AN. (2005). Antioxidant properties of essential oils: Autoxidation of essential oils from laurel and fennel and their mixtures with essential oil from coriander. *Journal of Biochemistry and Microbiology*, 41(6), 610-618.
- Mohagheghi Samarina A, Poorazarang H, Elhamirad AH, Dezashibi Z, Hematyar N. (2011). Extraction of phenolic compounds from potato peel (*Ramus variety*) with solvent and ultrasound-assisted methods and evaluation of its antioxidant activity in soybean oil. *Journal of Food Science and Technology*, 8(1), 81-91 [In Farsi].
- Namiki, M. (1990). Antioxidants, antimutagens in food. *Journal of Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 29(4), 273-300.
- Napoli EM, Curcuruto G, Ruberto G. (2010). Screening the essential oil composition of wild Sicilian fennel. *Journal of Biochemical Systematics and Ecology*, 38(2), 213-223.
- Omidbaigi R. (1957). *Production and Processing of Medicinal Plants*. Tehran: Behnashr, p. 68-78 [In Farsi].
- Pokorny J, Yanishlivea N, Gordon M. (2001). *Antioxidant in food*. CRC Press. p. 380.
- Proestos C, Boziaris IS, Nychas GJE, Komaitis M. (2006). Analysis of flavonoids and phenolic acids in Greek aromatic plants: Investigation of their antioxidant capacity and antimicrobial activity. *Journal of Food Chemistry*, 95, 664-671.
- Reichert S, Masandl A. (2007). Stereoisomeric flavor compounds LXXXI: dill ether and its cis-Stereoisomers; synthesis and enantioselective analysis. *Journal High Resolution Chromatography*, 21, 185-189. 28. Roby MHH, Sarhan MA, Selim kA, Khalel KI. (2012). Antioxidant and antimicrobial activities of essential oil and extracts of fennel (*Foeniculum vulgare* L.) and chamomile (*Matricaria chamomilla* L.). *Journal of Industrial Crops and Products*, 1-9.
- Senatore F, Oliviero F, Scandolera E, Taglialatela O, Roscigno G, Zaccardelli M, De Falco E. (2013). Chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of anethole-rich oil from leaves of selected varieties of fennel (*Foeniculum vulgare* Mill. ssp. Vulgar var. azoricum (Mill.) Thell). *Journal of Fitoterapia*, 90, 214-219.
- Shahidi F, Wanasundara UN. (2002). Methods for Measuring Oxidative Rancidity in Fats and Oils. *Food lipids: Chemistry, Nutrition, and Biotechnology*. 2nd ed. New York: Marcel Dekker. p. 465-487.
- Shahidi F, Zhong Y. (2005). *Lipid Oxidation: Measurement Methods*, Bailey's Industrial Oil and Fat Products, 6th ed. Six Volume Set. Memorial University of New foundland, St. John's, New foundland, Canada. p.357-385.
- Singh GS, Maurya MP, Lampasona DE, Catalan C. (2006). Chemical constituents, antifungal and antioxidative potential of *Foeniculum vulgare* volatile oil and its acetone extract. *Journal of Food Control*, 17, 745-752.
- Sotirios K, Vassiliki O. (2005). Antioxidation properties of natural carotenoid against the AAPH-initiated oxidation of food emulsion. *Journal of Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 7, 132-139.
- Telci I, Demirtas I, Sahin A. (2009). Variation in plant properties and essential oil composition of sweet fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.) fruits during stages of maturity. *Journal of Industrial Crops and Products*, 30, 126-130.
- Viuda-Martos M, Mohamady MA, Fernández-López J, Abd ElRazik KA, Omer EA, Pérez-Alvarez JA, Sendra E. (2011). In vitro antioxidant and antibacterial activities of essentials oils obtained from Egyptian aromatic plants. *Journal of Food Control*, 22, 1715-1722.
- Waterman PG, Mole S. (1994). *Analysis of Phenolic Plant Metabolites*. Oxford: Blackwell Scientific Publications. p. 590.
- Weiping H, Baokang H. (2011). A review of chemistry and bioactivities of a medicinal spice: *Foeniculum vulgare*. *Journal of Medicinal Plants Research*, 5(16), 3595-3600.
- Yanishlieva NV, Marinova EM. (1998). Activity and mechanism of action of natural antioxidants in lipids. *Journal of Recent Research and Development in Oil Chemistry*, 2, 1-14.
- Yanishlieva-Maslarova N.V. (2001). *Inhibiting oxidation*, In: *Antioxidants in Food*. Pokorny J, Yanishlieva N, Gordon M. Eds. Woodhead Publishing Ltd. Cambridge, UK, pp. 22-70.
- Zoubiri S, Baaliouamer A. (2011). Chemical composition and insecticidal properties of some aromatic herbs essential oils from Algeria. *Journal of Food Chemistry*, 129, 179-182.

Archive of SID